Plateforme de Spectrométrie Isotopique de LIENSs

Fonctionnement et Règlement

Version 2.4, octobre 2012

Rédacteur : P. Richard

Sommaire

1. Présentation

La Plateforme de Spectrométrie Isotopique (PSI) est une plateforme analytique de l'UMR LIENSs, localisée dans le Bâtiment Marie Curie à l'Université de La Rochelle. Elle permet la réalisation des besoins en analyse des rapports d'isotopes stables des chercheurs et doctorants de l'UMR et des structures de recherche dont fait partie l'UMR (ex : fédération de recherche FREDD). Elle peut également effectuer des analyses pour des laboratoires extérieurs, publics ou privés, sur la base d'une collaboration scientifique ou à titre de prestation de services.
Elle a aussi vocation, dans la mesure de disponibilité des moyens humains, à former les chercheurs et étudiants qui veulent utiliser des approches isotopiques, pour qu'ils aient un minimum de connaissances sur les processus de base qui en font tout l'intérêt.
La Plateforme de Spectrométrie Isotopique a été créée à l'Université de La Rochelle début 2008, lors de la création de l'UMR LIENS, en continuité du laboratoire d'analyses de spectrométrie isotopique développé au Centre de Recherche en Ecologie Marine et Aquaculture de L'Houmeau depuis 1990.

La plateforme comprend 2 pièces dédiées :

- Un laboratoire d'analyse (pièce B107) en environnement contrôlé (alimentation électrique, température, humidité) où se trouvent les équipements d'analyse des rapports isotopiques, mais aussi la microbalance nécessaire à la pesée des échantillons.

- Un laboratoire de préparation des échantillons (pièce B108) équipé d'une sorbonne, où sont réalisées les délipidations ou décarbonatations.

D'autres équipements de la plateforme (vibrobroyeur et accessoires, étuves, four..) sont installés dans des pièces à usage général (B109, B111).

La Plateforme de Spectrométrie Isotopique est gérée par 2 référents : un référent scientifique (actuellement Pierre RICHARD, DR CNRS) et un référent analytique (Gaël Guillou, AI CNRS).

2. Equipements analytiques et mesures réalisées

La plateforme est équipée d'un **spectromètre de masse isotopique en flux continu** (CF-IRMS) **Delta V Advantage** (Thermo Scientific, Brême, Allemagne), relié par une interface ConFlo IV aux équipements annexes.

Un **analyseur élémentaire Flash EA 1112** (Thermo Scientific, Milan, Italie) équipé d'une option SmartEA et d'un passeur automatique d'échantillons ZeroBlank (Costech, Milan, Italie) permet la mesure des $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$ et $\delta^{34}S$ d'échantillons bruts en poudre ou liquides. Il fournit aussi le %C, %N et %S des échantillons.

Un **couplage avec un chromatographe en phase gazeuse GC-Isolink + Trace GC** (Thermo Scientific) relié au ConFlo IV permet la mesure des $\delta^{13}C$ et $\delta^{15}N$ sur des composés biochimiques séparés par CPG (actuellement sur des acides gras).

Un **analyseur Haute Température TC/EA** (Thermo Scientific) relié lui aussi au ConFlo IV permet la mesure du D/H et du $\delta^{18}O$ sur différentes matrices (eau, matière organique, nutriments).

Une **ligne de préparation de carbonates** reliée directement au ConFlo IV est utilisée pour la mesure du $\delta^{13}C$ et du $\delta^{18}O$ sur des microéchantillons de carbonates (10-300 µg).

Une description plus détaillée des équipements disponibles et de leurs performances est donnée dans l'annexe 1 "Equipements disponibles".

3. Règles de fonctionnement de la plateforme

3.1. Conditions d'accès

Sur projet interne au laboratoire

- Sans restriction sauf contraintes détaillées aux § 3.3 et 3.4.

Dans le cadre d'une collaboration scientifique (= valorisation scientifique à terme)

- Obligation de collaboration avec un chercheur du laboratoire
- Nécessité de concordance avec les thématiques du laboratoire

Dans le cadre d'une prestation de service

- Si disponibilité des moyens humains et analytiques

Dans tous les cas, l'engagement du demandeur, en termes de conformité des échantillons et de règlement du coût des analyses, est un pré-requis.
L'accès aux équipements de préparation des échantillons n'est possible que sous réserve de leur disponibilité (cf. § 3.3.1) et du respect des règles d'utilisation de la plateforme (cf. § 3.4.4).

Les stagiaires et doctorants ne pourront avoir accès à la plateforme de spectrométrie isotopique qu'après avoir signé la charte d'utilisation et reconnu avoir lu ce règlement (cette charte devra aussi être signée par leur responsable de stage ou directeur de thèse).

3.2. Rôle et responsabilités de l'équipe référente et des utilisateurs

Equipe référente : Elle a pour rôle de veiller à la qualité analytique du système, à sa maintenance et à son évolution. Elle prépare, à partir des données fournies par le technicien référent, la facturation des analyses réalisées et des bilans de gestion réguliers, mais aussi les demandes de développement analytique ou de jouvence technique. Elle s'assure de l'adéquation des priorités d'analyses avec les priorités scientifiques du laboratoire.

Chercheurs référents : Les chercheurs référents par leur double compétence analytique et scientifique sont les plus à même de s'assurer de l'usage adéquat de la plate-forme par rapport aux objectifs scientifiques affichés. Ils ont, dans la mesure de leur disponibilité, un rôle de formation théorique et éventuellement analytique.

Ingénieur référent : Il est responsable du système analytique et des résultats bruts (non interprétés). Il est en charge de proposer le calendrier d'utilisation, d'assurer la maintenance de l'appareillage et le suivi de gestion (nombre d'analyses, coûts, contrôle qualité). Il assure la formation technique des personnels en vue de leur habilitation.

> ***L'ingénieur référent ne participe en aucune manière à la préparation des échantillons, même s'il peut conseiller pour l'usage des équipements.***

Technicien habilité : Technicien habilité à l'analyse de routine des échantillons en collaboration avec le technicien référent du système. Il est responsable des résultats bruts (non interprétés)

Chercheur / Doctorant habilité : Idem technicien habilité, mais responsable de l'interprétation des résultats et de leur utilisation sous forme de production scientifique (cf ci-dessous)

Chercheur responsable de la demande : c'est le demandeur d'analyses ou de projet analytique.

> **Il est responsable du protocole de préparation appliqué à ses échantillons, ainsi que de l'utilisation des équipements de la plate-forme par lui-même ou par ses doctorants et stagiaires qu'il encadre. Il s'engage sur le règlement du coût des analyses et doit aussi (excepté dans la cas d'une prestation de service) justifier sous forme de production scientifique l'utilisation de la plate-forme (les publications auxquelles des analyses ont contribué doivent être signalées).**

Note : Les stagiaires ne peuvent être des demandeurs d'analyses, leurs demandes ainsi que celles des doctorants doivent être visées par le responsable du crédit sur lequel sera imputé le coût des analyses.

3.3. Priorités et plannings d'utilisation

La plateforme fonctionne sur le principe du "premier arrivé – premier servi". Cependant, cette règle de base est contrainte par un certain nombre de priorités, que ce soit pour les analyses ou pour les équipements de préparation.

3.3.1. Utilisation des équipements de préparation

Les différents équipements nécessaires pour la préparation des échantillons doivent être réservés : étant à certaines périodes utilisés à plein temps, il est impératif de les réserver en utilisant le fichier Excel de réservations ("Réservation_LIENSs_20xx.xls") dans le répertoire LIENSs/Plateforme technique /Réservations.
Certaines formations diplômantes (M2 en particulier) bénéficient d'une certaine priorité pour la préparation des échantillons. Cependant, cette priorité ne pourra complètement bloquer l'accès aux équipements pour d'autres demandeurs et en cas de besoin, deux jours par semaine devront être libérés pour cela.
En cas de problème (urgence, inaccessibilité au fichier de réservation..) consulter l'équipe référente, **mais les stagiaires DOIVENT passer par leur maître de stage pour faire les réservations**.

- **La réservation implique l'engagement d'utilisation : il n'est pas correct vis à vis des autres utilisateurs de bloquer des appareils sans les utiliser. En cas d'abus, les réservations suivantes des utilisateurs en cause seront limitées d'office.**

3.3.2. Planning des analyses

Le principe du "premier arrivé – premier servi" s'applique mais avec de nombreuses contraintes qui sont gérées par l'équipe référente :

- Contraintes de disponibilité des personnels habilités
- Contraintes techniques : dépendantes de la maintenance des appareils, du type d'échantillons analysés etc …
- Priorités : à certaines formations diplômantes (M2 en particulier), aux tests avant préparation de grosses séries, à certaines situations d'urgence…

Attention : les formations diplômantes ne sont considérées comme prioritaires que si l'équipe référente a été avertie à l'avance (en janvier pour un M2 par exemple) du nombre (approximatif) d'échantillons à analyser et de la période d'obtention des échantillons.

3.4. Contraintes d'utilisation de la plateforme

3.4.1. Principes

Les utilisateurs sont tenus de fournir des échantillons prêts à être analysés : aucune préparation d'échantillons n'est assurée par l'équipe référente en tant que telle.
Les échantillons doivent être conformes aux préconisations indiquées § 3.4.2 (et détaillées Annexe 2) et fournis avec le formulaire d'analyse renseigné de façon adéquate (§ 3.4.3).

Rappel : **les chercheurs sont responsables des protocoles de préparation de leurs échantillons et de leur adéquation avec les objectifs scientifiques de l'étude.**

3.4.2. Conformité des échantillons

Ce paragraphe ne concerne que les échantillons analysés en analyse élémentaire (C & N), les autres types d'analyse (et autres éléments) sont détaillés dans des fiches spécifiques (en cours d'élaboration).
En analyse élémentaire, les échantillons sont placés dans des capsules en étain (ou en argent) fermées et pressées sous forme de boulettes pour être introduites dans l'appareil. Les protocoles détaillés de préparation pour différents types d'échantillons sont donnés dans l'annexe 2 "Préparation des échantillons" ; ne sont données ici que les règles générales devant être respectées concernant 4 points importants :

- ***Echantillons enrichis***
L'analyse des échantillons enrichis en isotopes stables n'est réalisée qu'à condition que les échantillons ne dépassent pas un taux d'enrichissement de **3%**.

Il est du ressort des utilisateurs de s'assurer qu'ils ne dépassent pas ce taux : au-delà de 3% d'enrichissement, il y a contamination irrémédiable des réacteurs, voire de la colonne CPG, dont le remplacement pourra être facturé.
Entre 1% et 3% d'enrichissement il peut y avoir un "effet mémoire" sur les échantillons suivants, les utilisateurs doivent donc prévoir, autant que faire se peut, leurs séries d'analyse pour aller d'échantillons peu enrichis aux échantillons très enrichis et prévoir éventuellement des blancs supplémentaires entre échantillons.

Dans tous les cas, le délai d'analyse des échantillons enrichis peut être allongé : pour éviter les problèmes de contamination, ces échantillons ne sont passés qu'en fin de vie des réacteurs (environ 8 jours de délai supplémentaire).

- ***Masse de l'échantillon à analyser***

Les équipements utilisés permettent d'obtenir une bonne précision dans une gamme étendue de masses d'échantillons, grâce à l'option SmartEA qui permet d'ajuster, pour chaque pic, les quantités de gaz introduites dans l'analyseur de masse par rapport à celles des références correspondantes.
Les valeurs des gammes admissibles (en mg PS) pour différents types d'échantillons sont données à titre d'exemples dans le tableau ci-dessous (pour des analyses C et N) :

Type d'échantillon	Minimum	Optimal	Maximum
Tissu animal	0,1	0,4	1,5
Micro ou macroalgues	0,2	0,6	1,8
Phanérogames marines	0,3	0,7	2,0
Angiospermes	0,3	0,7	2,0
Sédiment riche en matière organique	0,2	0,6	1,8
Sédiment pauvre (sable)	1,0	-	> 30,0

En ce qui concerne la matière organique recueillie sur filtre, aucune valeur ne peut être indiquée, il est nécessaire de faire des tests préliminaires (cf aussi Annexe 2). Ces tests sont également conseillés pour tout échantillon dont la teneur en matière organique et/ou le rapport C:N sont variables, comme les sédiments, en particulier les plus pauvres en matière organique, les détritus, le bois etc…

- ***Taille des boulettes***

Deux plateaux de passeur sont disponibles : un plateau à 50 positions (trous de 8 mm de diamètre) ou un plateau à 100 positions (trous de 3,5 mm de diamètre).
Lorsque les types d'échantillons sont compatibles, il est préférable de faire des boulettes ajustées au plateau à 100 positions, qui permet d'augmenter de près de 45 échantillons le débit journalier d'analyses.

<u>Pour le plateau à 100 positions</u> : les boulettes ne doivent pas avoir de dimension supérieure à **3 mm**, elles peuvent être faites sans problème pour la très grande majorité des tissus animaux ou végétaux (exceptions connues : plumes, bois, becs de calmars).

<u>Pour le plateau à 50 positions</u> : la plus grande dimension est de **7,5 mm** au maximum, ce qui convient pour les filtres (voir Annexe 2 pour le traitement des filtres) et les sédiments en particulier pauvres en matière organique.

- ***Forme des boulettes***

Les boulettes doivent être soit sphériques (cas le plus fréquent des grosses boulettes) soit en forme de section de cylindre, plus faciles à faire pour les petites boulettes (cf. constitution et gamme de taille des boulettes, Annexe 2).
Elles doivent être bien fermées pour éviter les pertes d'échantillons et les contaminations croisées. Elles doivent ne pas présenter d'excroissances ou de pointes, et surtout ne pas être plates, en forme de galettes (risque important de passer entre le plateau et la plaque sousjacente et d'empêcher la rotation du passeur).

Les boulettes présentant des risques de blocage du plateau ne seront pas analysées et devront être reprises.

3.4.3. <u>Formulaire d'analyse</u>

Les boulettes sont stockées et expédiées dans des plaques à puits (cf Annexe 2). Elles doivent être accompagnées d'un formulaire d'analyse à adresser sous forme électronique aux référents de la plateforme (Fichier Excel "Formulaire Analyse_IRMS_LIENSs_Int_xxx.xls") et d'une copie papier signée par le responsable du crédit pour les demandes internes et d'un bon de commande pour les extérieurs.
L'utilisation de ces formulaires, et des indications pour un bon référencement des échantillons est détaillée dans l'annexe 2.

Attention : Veuillez bien respecter les consignes de référencement des boîtes, des fichiers et des échantillons

3.4.4. <u>Usage des laboratoires de préparation des échantillons</u>

- ***Equipements***

La Plateforme de Spectrométrie Isotopique met à disposition tous les équipements nécessaires pour la préparation des échantillons, soit dans les pièces dédiées (B107 et B108) soit dans les pièces communes (B109 et B111).
Cependant, **il est impératif de réserver une plage d'utilisation pour chaque équipement** nécessaire (Application Excel "Reservation_LIENSs_20xx" sur LIENSs/Plateforme technique /Réservations).

En outre la microbalance est d'office réservée pendant environ ½ heure chaque matin (généralement entre 8h et 9h) pour la pesée des standards.

La réservation implique l'engagement d'utilisation : il n'est pas correct vis à vis des autres utilisateurs de bloquer des appareils sans les utiliser.

L'utilisation de ces équipements est synthétisée dans les annexes 3 à 9. Un mode d'emploi complet (et parfois une fiche synthétique) sont présents dans un présentoir mural en regard de chaque équipement important (microbalance, centrifugeuse, broyeur, lyophilisateur, système de production d'eau...).
L'utilisation de certains équipements (microbalance, centrifugeuse, broyeur, lyophilisateur) doit être consignée dans les cahiers associés.

ⓘ **La formation à l'utilisation des équipements est faite aux chercheurs et techniciens permanents ainsi qu'aux doctorants, par l'équipe référente. La formation des stagiaires, chercheurs ou techniciens sur contrat est du ressort de leur responsable.**

Les utilisateurs (et les maîtres de stage / directeurs de thèse pour les stagiaires et doctorants) sont responsables de l'usage des équipements et de leur nettoyage après utilisation.

Un mauvais usage des équipements pouvant conduire à leur dégradation, ou le non respect de l'obligation de nettoyage des équipements et accessoires utilisés conduira à exclure les chercheurs, techniciens, doctorants ou stagiaires concernés de l'utilisation des laboratoires de préparation.

- ***Consommables et petits matériels***

Tous les consommables sont fournis par la plateforme, **à charge aux utilisateurs de signaler le besoin de renouvellement.**

Cette dernière recommandation étant rarement réalisée, il est fortement recommandé de signaler par avance à l'équipe référente le besoin en certains produits soumis à restrictions de volume (pour des raisons d'H & S) pour la préparation d'échantillons (chloroforme, méthanol, cyclohexane)

Les petits matériels nécessaires (dessiccateurs, boites de stockage d'échantillons en microtubes, portoirs, tubes bouchés, fioles pour la décarbonatation...) sont également fournis.

ⓘ **Seuls les matériels estampillés "IRMS", ou rangés dans un placard "IRMS" sont disponibles pour les utilisateurs de la plateforme.**

ⓘ **Tous les échantillons doivent être marqués de façon à ce qu'on puisse en identifier le propriétaire.**

Les matériels ne sont fournis qu'à titre temporaire, le temps de la préparation des échantillons et doivent être libérés au plus tôt pour les utilisateurs suivants:

- pour les dessiccateurs : dès que les échantillons ont été broyés et transférés dans des récipients adéquats et/ou mis en boulettes (**au maximum : une semaine**).
- pour les boîtes de stockage : dès que les boulettes ont été analysées.
- pour les fioles de décarbonatation et les tubes de délipidation : dès la fin du séchage des échantillons. Ces derniers doivent alors être aussitôt transférés dans des microtubes avant mise en capsules et les fioles ou tubes lavés et mis à sécher.
- pour les billes de broyage en microtubes : au plus tôt après préparation des boulettes. Les billes doivent être récupérées dans les tubes, lavées et séchées.

- **Le laboratoire de préparation de la plateforme n'est pas un lieu de stockage d'échantillons au-delà du temps de préparation et d'analyse. Les échantillons non récupérés après leur analyse seront "poubellisés" 15 jours après rappel au bon usage de la plateforme auprès de leur propriétaire, pour ceux qui sont identifiables (idem pour les échantillons bruts stockés dans les dessiccateurs)**
- **Le lavage des fioles de décarbonatation et des tubes de délipidation, constitue un pré-requis à la réalisation des analyses.**

4. Contrôle qualité

Environ 1/3 du temps de fonctionnement du spectromètre de masse est consacré à des tests ou des calibrations.
Une routine de tests (stabilité, jump) est réalisée tous les jours avant le lancement des séries d'analyses. Trois blancs au début de chaque série permettent de corriger les valeurs brutes des échantillons et de vérifier l'absence de fuites.
Des standards d'acétanilide sont analysés en même temps que les échantillons (1 standard / 10 échantillons). Ils permettent d'une part de calibrer le détecteur pour la mesure des %C et %N (pour la mesure de ces éléments) et de pouvoir vérifier, par la valeur mesurée, le bon fonctionnement de toute la chaine analytique.
Chaque changement des colonnes de l'analyseur élémentaire (environ tous les 800 échantillons) est accompagné de tests de fuite et de tests plus poussés de la stabilité.
Chaque maintenance (changement de filament, nettoyage de source, modification des réglages de source, changement de bouteille de gaz de référence …) est suivie de tests et de calibrations par rapport aux standards de référence de l'IAEA.

Toutes les opérations d'analyse ou de maintenance sont consignées dans le cahier associé.

5. Gestion de la plateforme

La gestion quotidienne de la plateforme (plannings d'analyse et d'utilisation des équipements de préparation, prévision et suivi des commandes, maintenance, mise en forme et rendu des résultats, …) est assuré par l'équipe référente.
L'équipe référente gère aussi les demandes d'analyses de laboratoires extérieurs et prépare les devis avant prise en charge par les services administratifs et financiers de LIENSs, qui assure la gestion financière des deux entités dépensières de la plateforme (sur budget CNRS), une pour les crédits non reportables, une pour les crédits reportables.

L'équipe référente établit des bilans réguliers d'activités et de gestion, elle établit aussi le prix des analyses à partir des coûts des consommables et de la maintenance des appareils.

5.1. Base de calcul du prix des analyses

Le coût effectif des analyses (en analyse élémentaire C-N) est sensiblement plus élevé lorsqu'il s'agit de filtres, de sédiments ou d'échantillons enrichis (changement plus fréquent

d'insert, pour les filtres : colmatages des inserts qui les rendent inutilisables ; pour les sédiments : détérioration des réacteurs plus rapide ; pour l'enrichi : contaminations, nettoyage plus fréquent des circuits…). Jusqu'à octobre 2011, le prix des analyses était un prix unique, pour des raisons de facilité de gestion, mais la proportion fortement accrue depuis un an d'échantillons "difficiles" oblige maintenant à augmenter légèrement le prix de l'analyse de ces échantillons.

Le prix demandé aux utilisateurs comprend :

- le coût de l'analyse elle-même (consommables, gaz de référence, standards etc..),
- les capsules,
- les boites à puits pour ranger les capsules,
- les consommables pour préparer les échantillons
- la maintenance et la jouvence des équipements analytiques et des équipements de préparation.

5.2. Prix des analyses

Les prix donnés ci-dessous sont susceptibles d'être modifiés en fonction du coût des produits.

Analyses C ($\delta^{13}C$, %C), N ($\delta^{15}N$, %N), C+N ($\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$, %C, %N), S ($\delta^{34}S$, %S)

- *Tarif interne :* **5,00 € HT par analyse (échantillons standard) ou 5,50 € HT (filtres, sédiments, enrichis)**

Ce prix (pour les échantillons standard) a pu être maintenu constant depuis 2002 d'une part par l'optimisation de l'utilisation des machines (fonctionnement quasi continu, d'où un gaspillage minimal d'hélium), la recherche du meilleur rapport qualité/prix pour les consommables, et leur achat en grande quantité).
Ce prix bénéficie aussi de la prise en charge par le laboratoire de certaines dépenses comme les gaz pour la partie analytique ou les solvants et les acides pour la partie préparation. Cette part du coût de l'analyse permet d'alimenter une réserve pour une éventuelle panne sérieuse, toujours très coûteuse s'il faut une intervention du SAV du constructeur. La réserve non dépensée en fin d'année permet d'acheter une partie des consommables pour l'année suivante.

- *Tarif laboratoires publics extérieurs :* **7,5 € HT par analyse (8 € HT pour les échantillons non-standard)** hors collaboration scientifique. Sont imputées en sus la part de consommables et gaz prise en charge par LIENSs, ainsi qu'un part d'amortissement des équipements.

- *Tarif prestations de service :* **12 € (13 € pour échantillons non-standard) HT par analyse** hors préparation supplémentaire